

DOSSIER THÉMATIQUE : ANTIANGIOGÉNIQUES ET CANCER COLORECTAL MÉTASTATIQUE

Imagerie de la réponse aux traitements antiangiogéniques

Imaging of response to anti-angiogenic drugs

Laure S. Fournier^{1,2}, Charles-André Cuénod^{1,2}, Daniel Balvay², Rokhaya Thiam^{1,2}, Guy Frija¹

1. Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Service de Radiologie, 20, rue Leblanc, F-75908 Paris

2. Laboratoire de Recherche en Imagerie, INSERM, U970, Cardiovascular Research Center (PARCC), 40, rue Leblanc, F-75908 Paris

laure.fournier@egp.aphp.fr

■ Résumé

Les nouveaux traitements, comme les molécules antiangiogéniques, agissent sur des cibles spécifiques. Leur effet sur la taille tumorale est parfois absent ou retardé. De nouvelles techniques d'imagerie fonctionnelle s'intéressent à une caractéristique physiologique plutôt que la taille tumorale, et pourraient mettre en évidence des modifications en réponse au traitement apparaissant plus précocement.

L'imagerie dynamique de la microcirculation suit la biodistribution d'un agent de contraste, et analyse la vascularisation tumorale.

Mots-clés

Cancer, Imagerie fonctionnelle, Réponse thérapeutique

L'imagerie par résonance magnétique pondérée en diffusion permet de distinguer l'eau libre, de l'eau restreinte dans les tissus, reflétant la cellularité tumorale. *L'imagerie par résonance magnétique par effet BOLD* reflète l'oxygénation tissulaire en quantifiant le rapport déoxy/oxyhémoglobine.

Les études testant ces techniques sont cependant préliminaires et nécessitent des études à grande échelle pour évaluer leur rôle dans la réponse aux traitements ciblés en oncologie.

■ Abstract

New therapies, such as anti-angiogenic drugs, target specific molecules. Their effect on tumor size is sometimes absent or delayed. New techniques of functional imaging do not detect changes in size, but rather a physiological characteristic, and could reveal changes in response to treatment which arise earlier.

Dynamic contrast-enhanced (DCE) imaging follows the biodistribution of a contrast agent and analyzes tumor vascularization.

Diffusion-weighted magnetic resonance imaging quantifies restriction to diffusion of water in tissues, reflecting tumor cellularity. *BOLD magnetic resonance imaging* reflects tissue oxygenation by quantifying the ratio between deoxygenated and oxygenated hemoglobin.

Studies testing these techniques are still preliminary. It is therefore necessary to organize large scale studies to evaluate their potential role in response to targeted therapies in oncology.

Keywords

Cancer, Functional imaging, Therapeutic response

Le suivi radiologique traditionnel d'un traitement est basé sur l'imagerie morphologique afin de déceler des modifications de taille de la tumeur définissant une réponse ou une progression. Ces techniques ne sont pas toujours adaptées aux nouvelles molécules : les traitements antiangiogéniques, bien qu'efficaces, entraînent peu ou pas de variation de taille. Cependant, il est probable que ces molécules soient responsables de modifications métaboliques et physiologiques précoces après leur mise en route. Il est donc nécessaire de mettre au point des indicateurs précoces et fiables de réponse aux traitements antiangiogéniques, prédictifs de la future réponse clinique. Ces indicateurs faciliteraient les essais cliniques des nouveaux agents thérapeutiques, mais aideraient aussi à sélectionner un traitement optimal pour un patient donné.

De nouvelles techniques d'imagerie fonctionnelle et métabolique sont en développement, apportant une information sur la physiopathologie des tumeurs en plus de l'information morphologique obtenue avec les techniques traditionnelles. Il existe actuellement de nombreuses pistes explorant les capacités de l'imagerie par Résonance Magnétique, la tomодensitométrie par rayons X, l'échographie, la scintigraphie et la tomographie par émission de positons. Cependant, il n'y a, pour l'instant, pas de consensus indiquant quelle(s) technique(s) est (sont) la (les) plus performante(s), reproductible(s), précise(s) et fiable(s), ni sur la pertinence clinique des paramètres ainsi mesurés.

L'objectif de cette mise au point est de présenter des nouvelles techniques d'imagerie pouvant prédire et évaluer la réponse aux traitements antiangiogéniques. Nous nous intéresserons uniquement aux techniques radiologiques, non-isotopiques, qui sont au stade d'application clinique, et pourraient être implémentées dans le suivi oncologique des patients dès aujourd'hui. La plupart des techniques d'imagerie fonctionnelle décrites dans cette mise au point ont initialement été développées pour l'étude du cerveau, et ne sont appliquées que récemment à l'étude des tumeurs.

Trois techniques pouvant contribuer à l'évaluation des traitements antiangiogéniques sont décrites dans cette revue :

- l'imagerie dynamique de la microcirculation qui quantifie la vascularisation tumorale ;
- l'IRM de diffusion qui reflète la cellularité tumorale ;
- l'IRM par effet BOLD qui reflète l'oxygénation tissulaire.

Une nouvelle technique nécessite d'être sensible à une large gamme de valeurs de paramètres pour mettre en évidence une différence mesurable entre tissu tumoral avant et après traitement. Mais elle doit comporter une faible variabilité biologique inter-individu et une reproductibilité technique élevée car de trop grandes déviations standard, liées à la technique, feraient baisser sa spécificité.

■ Imagerie dynamique de la microcirculation

Depuis plusieurs années, des techniques d'imagerie dynamique (appelées « dynamic contrast enhanced » ou « DCE imaging » chez les Anglo-Saxons) permettant d'analyser la vascularisation

tumorale ont été développées, visant à évaluer spécifiquement les vaisseaux tumoraux, afin de détecter directement l'effet biologique antiangiogénique des traitements, plutôt que leurs effets indirects et tardifs sur la taille des tumeurs [1-6].

Le principe de l'imagerie dynamique est le suivi de la biodistribution d'un agent de contraste qui se comporte comme un traceur. Après injection par voie intraveineuse, celui-ci est transporté par la circulation dans les tissus puis, en fonction de sa taille, diffuse à travers la barrière endothéliale pour se distribuer dans l'espace interstitiel. L'imagerie suit la distribution du traceur en mesurant les variations de rehaussement des vaisseaux et des tissus au cours du temps [7-10].

En pratique, une acquisition d'une série d'images, centrée sur la tumeur, est répétée afin de suivre les modifications au cours du temps de la concentration en agent de contraste au sein du tissu étudié. L'agent de contraste est injecté par voie intraveineuse pendant l'acquisition.

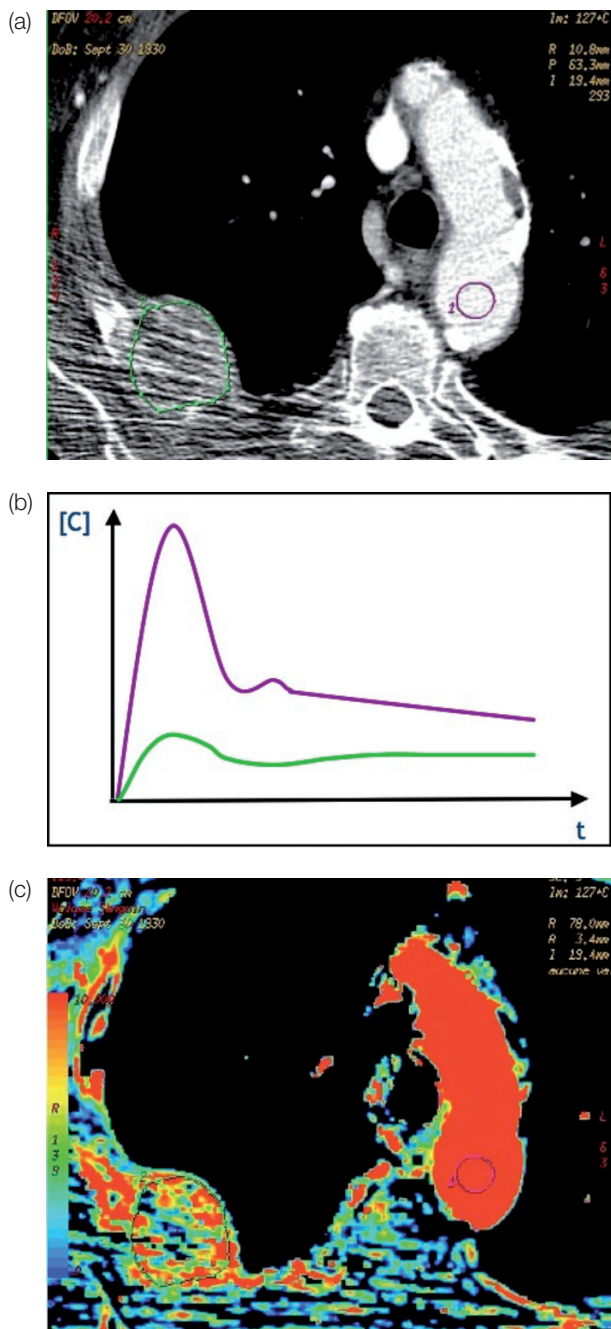
Les données sont ensuite transmises sur une station de travail permettant de définir des régions d'intérêt (Region Of Interest « ROI ») sur une grosse artère afférente et sur la lésion tumorale cible, permettant d'obtenir des courbes de variation du signal au cours du temps (Fig. 1a et b). Un logiciel d'analyse applique une modélisation mathématique permettant d'extraire les paramètres microvasculaires tels que le flux sanguin tissulaire, le volume sanguin tissulaire, la perméabilité capillaire, le volume de distribution interstitielle ou le temps de transit moyen.

Cette technique peut être réalisée en tomодensitométrie (scanner), IRM ou échographie. En échographie, les agents de contraste (microbulles) sont volumineux et restent dans les vaisseaux, permettant une quantification du flux et du volume sanguins, ainsi que du temps de transit moyen. La figure 1c représente une carte paramétrique de volume sanguin tissulaire chez un patient porteur d'une métastase costale.

Dans une étude clinique [11], notre équipe a montré dans une population de patients atteints de cancers du rein métastatiques sous sunitinib ou sorafenib (n = 51) que :

- les valeurs du flux et du volume sanguins tissulaires mesurés par scanner de perfusion chutaient, de manière significative, après un seul cycle de traitement antiangiogénique alors qu'ils n'étaient pas modifiés chez les patients sous interféron ou placebo ;
- la chute des paramètres fonctionnels apparaissait avant la diminution de taille ;
- les valeurs du flux et du volume sanguins tissulaires mesurés par scanner de perfusion, avant traitement, étaient significativement plus élevées chez les patients répondeurs, c'est-à-dire que plus la tumeur était vascularisée initialement, plus elle répondait au traitement antiangiogénique.

Ces résultats montrent que la mesure de la perfusion tumorale d'une tumeur pourrait prédire la sensibilité de la tumeur avant la mise en route du traitement antiangiogénique, et détecter précocement la réponse tumorale sous traitement.

**Figure 1**

Imagerie dynamique de la microcirculation

(a) TDM : des régions d'intérêt (ROI) sont posées sur un vaisseau (ici, la crosse de l'aorte) et sur la tumeur (ici, une métastase costale). Ces ROI sont reportées automatiquement sur toutes les images de la série dynamique ; (b) à partir des régions dessinées sur l'image, les courbes temporelles de rehaussement sont obtenues, correspondant à l'évolution du signal lors de l'injection d'un bolus d'agent de contraste ; (c) des paramètres fonctionnels de la microcirculation peuvent être extraits mathématiquement et reportés sur chaque pixel de l'image par un codage couleur, générant une image appelée « carte paramétrique ». Ici, une cartographie de volume sanguin où sont représentés : en rouge, les pixels avec le volume sanguin le plus élevé ; et, en bleu, ceux dont le volume sanguin est proche de zéro

En ce qui concerne les métastases hépatiques de cancers colorectaux, des études chez l'animal avaient montré des modifications précoces de la perfusion hépatique au stade de micro-métastase, sans lésion radiologiquement visible [12]. Basé sur cette hypothèse, un PHRC intitulé « Pixel » est en cours chez l'homme dans cinq centres pour évaluer la valeur pronostique sur l'apparition de métastases hépatiques de l'index de perfusion hépatique préthérapeutique évalué par scanner de perfusion, chez des malades atteints de cancer colique initialement non-métastatique. Deux cents (200) patients doivent être recrutés.

■ IRM de diffusion

L'IRM pondérée en diffusion permet de quantifier la restriction de la diffusion des molécules d'eau dans les tissus, reflétant la cellularité tumorale. Il s'agit d'une séquence supplémentaire simple et rapide à mettre en œuvre, présente sur toutes les machines d'IRM, et faisant maintenant partie de tous les bilans oncologiques en IRM.

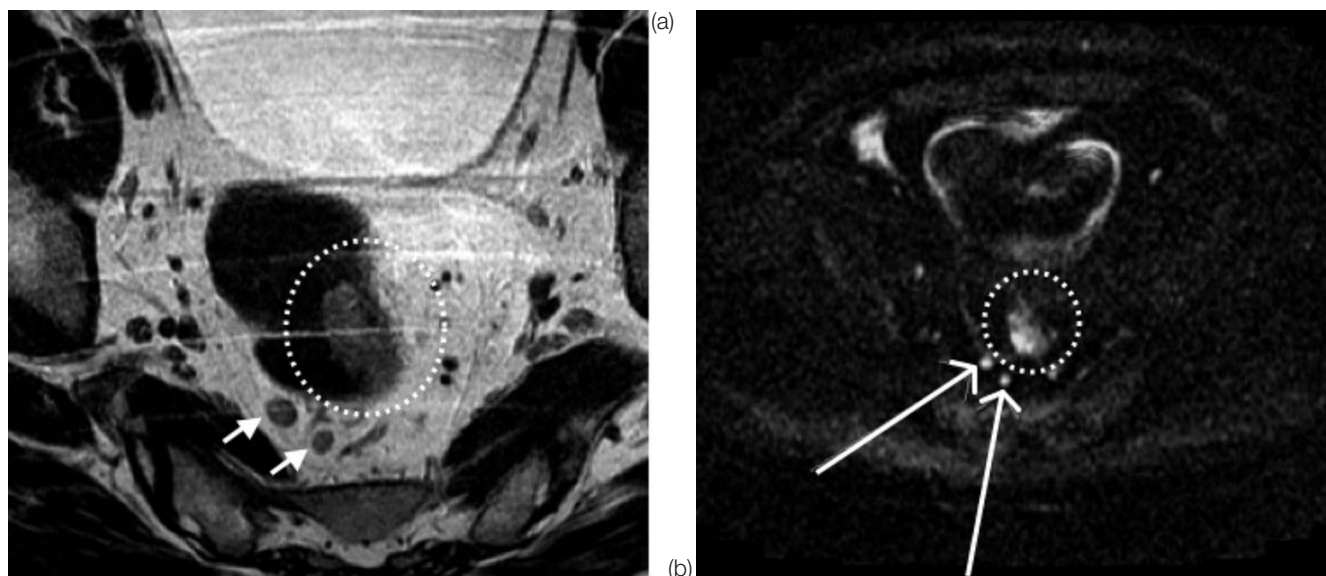
Deux gradients intenses et symétriques sont appliqués au tissu. Si les molécules d'eau se sont déplacées par diffusion entre les deux gradients, il en résultera une perte de signal, reflétant le degré de mobilité des molécules d'eau dans le tissu. Or, l'eau intracellulaire est beaucoup plus limitée dans ses déplacements que l'eau extracellulaire. Le coefficient de diffusion est donc considéré comme reflétant la cellularité d'un tissu [13]. Ainsi, un tissu tumoral très cellulaire aura un coefficient de diffusion faible. En revanche, après un traitement entraînant la mort cellulaire, les molécules d'eau pourront diffuser plus librement, et l'on observera une augmentation du coefficient de diffusion [14]. La « pondération » en diffusion, c'est-à-dire la sensibilité de la séquence à la mobilité des protons de l'eau, dépend d'une valeur de gradients appelée « b » : plus « b » est élevé, plus la séquence est pondérée en diffusion.

Les images peuvent être analysées visuellement ; les tissus tumoraux apparaissent alors en blanc ou « hypersignal » (Fig. 2). La diffusion des molécules d'eau dans le tissu peut aussi être quantifiée par un paramètre appelé « coefficient de diffusion apparent » (ADC, en mm^2/s). Un ADC moyen peut donc être calculé pour chaque tumeur, avant et après traitement.

Dans une étude clinique [15], Dzik-Jurasz et coll. ont montré que :

- la valeur du coefficient de diffusion avant traitement de carcinomes rectaux ($n = 14$) était inversement corrélée au pourcentage de diminution de taille de la tumeur après radiochimiothérapie ;
- les patients non-répondeurs avaient un ADC avant traitement significativement plus élevé que les patients répondeurs, c'est-à-dire que leur tumeur était moins cellulaire.

Ces résultats montrent que la valeur du coefficient de diffusion d'une tumeur pourrait prédire la susceptibilité d'un patient à répondre à un traitement.

**Figure 2**

IRM pondérée en diffusion

(a) IRM : séquence axiale en pondération T2 montrant la tumeur (cercle pointillé) comme un épaississement irrégulier de la paroi latérale gauche du haut-rectum bourgeonnant dans la lumière. Deux adénopathies du mésorectum sont visibles en arrière et à droite (flèches courtes) ; **(b)** Sur la séquence pondérée en diffusion, la plupart des tissus ont subi une perte de signal. La tumeur (cercle pointillé), au contraire, présente une diminution de la diffusion de l'eau par rapport aux autres tissus car richement cellulaire. Il s'ensuit une absence de perte de signal et donc un hypersignal relatif. Les deux adénopathies sont également en hypersignal et facilement détectables (flèches longues)

Bien que la diffusion ne soit pas directement corrélée à l'effet biologique sur les vaisseaux des traitements antiangiogéniques, elle pourrait être intéressante pour le suivi de ces traitements car elle permet de détecter précocement une souffrance cellulaire, avant l'apparition de la nécrose et la réduction de taille tumorale. De plus, des études récentes ont montré qu'en utilisant des valeurs faibles de gradients b [16], l'IRM de diffusion était sensible à la perfusion et la vascularité tissulaires, ce qui permet d'imaginer qu'elle serait également sensible aux modifications spécifiques induites par les traitements antiangiogéniques. Ces études restent à être réalisées.

■ IRM par effet BOLD

L'IRM par effet BOLD (Blood Oxygenation Level Dependent), appelée également « imagerie de susceptibilité intrinsèque », est une technique sensible à l'oxygénation des tissus. En effet, l'hémoglobine sous sa forme désoxygénée a des propriétés paramagnétiques, c'est-à-dire qu'elle modifie le champ magnétique local dans un tissu. En pratique, cela signifie qu'il existe une perte de signal proportionnelle à la quantité de déoxyhémoglobine dans les globules rouges des vaisseaux d'un tissu, pourvu qu'on réalise une séquence adaptée, appelée « séquence en écho de gradient ». Cependant, il en résulte que la perte de signal sera également influencée par d'autres facteurs tels que la quantité de globules rouges du tissu, elle-même en rapport avec le nombre de vaisseaux (volume sanguin), et la vitesse de circulation sanguine (flux sanguin) [17].

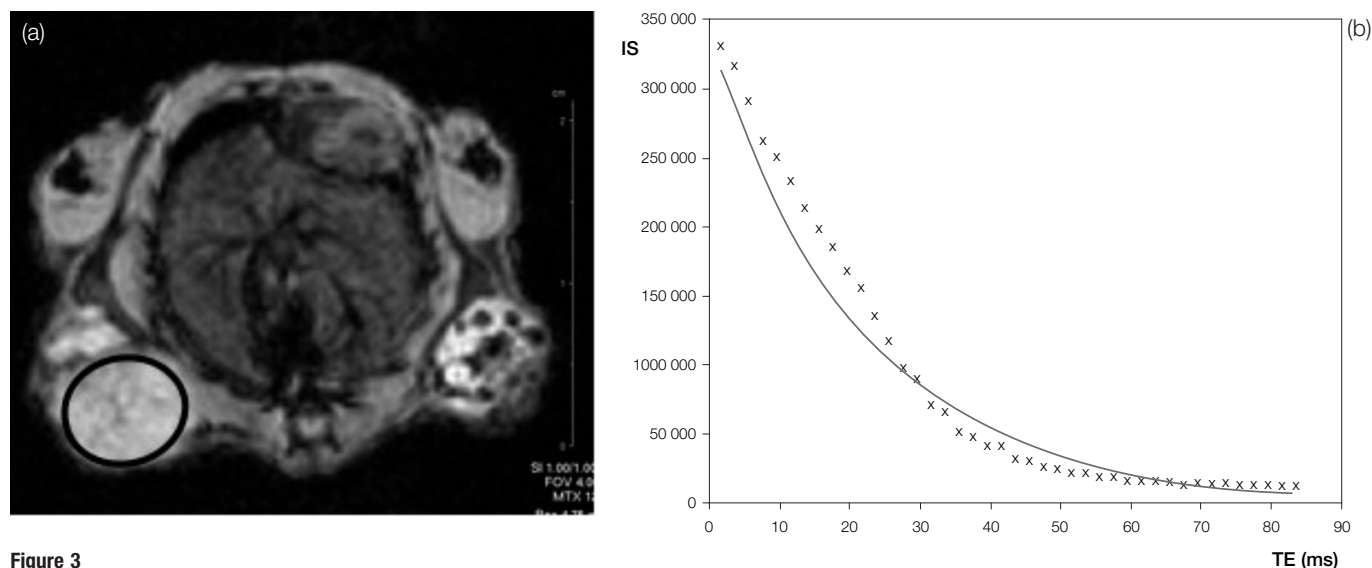
Cette imagerie est donc une imagerie qui reflète l'état d'oxygénation globale d'un tissu, combinant l'ensemble de ces paramètres. Il apparaît donc logique de s'intéresser à cette technique pour l'évaluation des traitements antiangiogéniques.

La perte de signal reflétant l'oxygénation/la vascularisation tumorales est quantifiée en mesurant la décroissance du signal dit de « $T2^*$ » : après une excitation des tissus par une impulsion radio-fréquence, le signal est mesuré à différents temps (temps d'écho) afin d'obtenir une décroissance exponentielle (Fig. 3). La valeur de la décroissance donne un paramètre appelé « $R2^*$ (s^{-1}) ». Cette technique peut être sensibilisée en faisant respirer, aux sujets, de l'oxygène pur ou du carbogène (mélange de 95 % O_2 et 5 % CO_2) [18], mais cela rend la technique moins facilement utilisable en pratique clinique, et moins bien tolérée par les patients.

Dans des études précliniques chez l'animal [19], il a été montré que la valeur du $R2^*$ des tumeurs diminuait, de manière dose-dépendante, sous traitement anti-vasculaire dans des modèles de prolactinome et fibrosarcome. Il n'y a pas encore eu d'études étudiant l'intérêt de l'IRM par effet BOLD dans la réponse aux traitements antiangiogéniques chez l'homme.

■ Perspectives

Il existe donc de multiples techniques qui sont disponibles en pratique clinique pour évaluer la réponse au traitement, permettant une alternative à l'imagerie purement morphologique.

**Figure 3**

IRM par effet BOLD

(a) IRM d'une tumeur humaine implantée en sous-cutané chez l'animal, séquence axiale en pondération T2* acquise à des temps d'échos (TE) variables. Une région d'intérêt placée sur la tumeur permet d'obtenir (b) une courbe de décroissance de l'intensité de signal (IS) en fonction du TE. Un ajustement mathématique par une exponentielle permet de calculer le R2* (ici 21,6 s⁻¹) de la tumeur, un paramètre reflétant l'oxygénation, le volume et le flux sanguins tumoraux.

Le tableau 1 résume ces méthodes et la caractéristique tumorale qu'elles quantifient. Les études réalisées chez l'homme sont cependant préliminaires, et la communauté médicale doit mettre en route une réflexion sur la manière d'évaluer leur intérêt pour la pratique quotidienne.

L'utilisation de la tomодensitométrie présente l'avantage de permettre une acquisition fonctionnelle au cours du bilan oncologique systématique déjà prescrit en pratique clinique pour le suivi des patients. Elle permet uniquement la quantification de la vascularisation par imagerie dynamique et, pour l'instant, d'une seule cible tumorale à la fois. Sa limite essentielle est, bien sûr, son caractère irradiant. Cette limite est cependant relative chez les patients de cancérologie dont le pronostic vital est en jeu à plus ou moins long terme. Elle sera, en revanche, importante chez les patients pédiatriques.

L'échographie permet, elle aussi, uniquement la quantification de la vascularisation par imagerie dynamique, mais présente comme avantage : son innocuité, son faible coût et sa facilité d'accès. L'agent de contraste peut être injecté à plusieurs reprises chez le

même sujet, permettant la quantification de la vascularisation de plusieurs cibles tumorales chez le même sujet.

L'utilisation de l'IRM permettrait une stratégie de « one stop shop » comprenant les techniques morphologique, dynamique, de diffusion, et BOLD en un seul examen. L'IRM présente la limite de son coût plus élevé et de sa moindre disponibilité. De plus, la technique d'acquisition influence grandement l'intensité de signal, et elle est plus difficilement comparable d'une machine à l'autre et d'un protocole à l'autre.

Enfin, il existe des techniques de médecine nucléaire qui n'ont pas été présentées dans ce travail, telles que la TEP au ¹⁸F-MISO, marqueur de l'hypoxie cellulaire.

Le défi de l'imagerie fonctionnelle sera d'apporter des données répondant à une attente concernant : soit une amélioration dans le domaine de la recherche (apport cognitif), soit une amélioration du devenir clinique des patients (apport pronostique).

Une démarche systématique de validation de ces techniques sera nécessaire pour qu'elles puissent servir de base à la décision thérapeutique. Il faudra donc mettre en place des études standardisées multicentriques à grande échelle, permettant d'évaluer la reproductibilité, la valeur diagnostique, et les domaines d'application de chaque technique. Il est possible que l'association de plusieurs biomarqueurs soit plus contributive qu'un seul ; par exemple, en combinant l'information morphologique de la taille à l'information fonctionnelle de la perfusion. Cette démarche nécessitera une collaboration étroite transdisciplinaire entre radiologues/médecins nucléaires et cliniciens afin de définir, à terme, des recommandations en imagerie spécifiques à la problématique particulière que représente l'évaluation de l'efficacité des traitements antiangiogéniques.

Tableau 1. Techniques d'imagerie fonctionnelle pour l'évaluation des traitements antiangiogéniques (hors médecine nucléaire)

Technique	Caractéristique tumorale
Imagerie morphologique	Taille
Imagerie dynamique	Vascularisation
IRM de diffusion	Cellularité
IRM par effet BOLD	Hypoxie/vascularisation

■ Références

1. De Bazelaire C, Rofsky NM, Duhamel G, et al. Arterial spin labeling blood flow magnetic resonance imaging for the characterization of metastatic renal cell carcinoma. *Acad Radiol* 2005;12:347-57.
2. Fournier LS, Novikov V, Lucidi V, et al. MR monitoring of cyclooxygenase-2 inhibition of angiogenesis in a human breast cancer model in rats. *Radiology* 2007;243:105-11.
3. Lassau N, Lamuraglia M, Chami L, et al. Gastrointestinal stromal tumors treated with imatinib: monitoring response with contrast-enhanced sonography. *AJR Am J Roentgenol* 2006;187:1267-73.
4. Meijerink MR, van Cruijsen H, Hoekman K, et al. The use of perfusion CT for the evaluation of therapy combining AZD2171 with gefitinib in cancer patients. *Eur Radiol* 2007;17:1700-13.
5. Ng QS, Goh V, Carnell D, et al. Tumor antivasular effects of radiotherapy combined with combretastatin a4 phosphate in human non-small-cell lung cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007;67:1375-80.
6. Sahani DV, Kalva SP, Hamberg LM, et al. Assessing tumor perfusion and treatment response in rectal cancer with multi-section CT: initial observations. *Radiology* 2005;234:785-92.
7. Brasch RC, Li KC, Husband JE, et al. In vivo monitoring of tumor angiogenesis with MR imaging. *Acad Radiol* 2000;7:812-23.
8. Cuenod CA, Fournier L, Balvay D and Guinebreiere JM. Tumor angiogenesis: pathophysiology and implications for contrast-enhanced MRI and CT assessment. *Abdom Imaging* 2006;31:188-93.
9. Miles KA, Charnsangavej C, Lee FT, et al. Application of CT in the investigation of angiogenesis in oncology. *Acad Radiol* 2000;7:840-50.
10. Padhani AR and Neeman M. Challenges for imaging angiogenesis. *Br J Radiol* 2001;74:886-90.
11. Fournier LS, Oudard S, Thiam R, et al. Dynamic contrast enhanced CT (DCE-CT) to evaluate anti angiogenic therapy in metastatic renal carcinoma. *Radiology* 2010;in press.
12. Cuenod C, Leconte I, Siauve N, et al. Early changes in liver perfusion caused by occult metastases in rats: detection with quantitative CT. *Radiology* 2001;218:556-61.
13. Le Bihan D. Molecular diffusion, tissue microdynamics and microstructure. *NMR Biomed* 1995;8:375-86.
14. Ross BD, Moffat BA, Lawrence TS, et al. Evaluation of cancer therapy using diffusion magnetic resonance imaging. *Mol Cancer Ther* 2003;2:581-7.
15. Dzik-Jurasz A, Domenig C, George M, et al. Diffusion MRI for prediction of response of rectal cancer to chemoradiation. *Lancet* 2002;360:307-8.
16. Luciani A, Vignaud A, Cavet M, et al. Liver cirrhosis: intravoxel incoherent motion MR imaging--pilot study. *Radiology* 2008;249:891-9.
17. Padhani AR, Krohn KA, Lewis JS and Alber M. Imaging oxygenation of human tumours. *Eur Radiol* 2007;17:861-72.
18. Howe FA, Robinson SP, McIntyre DJO, Stubbs M and Griffiths JR. Issues in flow and oxygenation dependent contrast (FLOOD) imaging of tumours *NMR Biomed* 2001;14:497-506.
19. Robinson SP, McIntyre DJO, Checkley D, et al. Tumour dose response to the antivasular agent ZD6126 assessed by magnetic resonance imaging. *Br J Cancer* 2003;88:1592-7.